

Nörodejeneratif Hastalıkların Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar: Tıbbi Beslenme

Prof. Dr. Mehmet Cansev

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Özet

Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar günümüzde milyonlarca insanı etkileyen multifaktöriyel, ilerleyici ve ölümlle sonuçlanan amansız hastalıklardır. Bu hastalıkların kesin tedavisi bulunmamakta ancak ilerleme sürecini yavaşlatan ve hastanın yaşam kalitesini arttırabilmeyi amaçlayan bazı medikasyonlar hali hazırda kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan bu ilaçların en büyük handikapı ise kronik kullanımda ciddi yan etkilerinin bulunmasıdır. Bu hastalıkların nedeni henüz tam olarak anlaşılamadığından nedene yönelik tedavi yaklaşımları geliştirilememektedir. Ancak bilinen fizyopatolojileri hedef alınarak uzun vadede yan etki profili düşük yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Yakın zamanlı çalışmalarda bu hastalıkların fizyopatolojisinde rolü olduğu düşünülen sinaps kaybı ve sinaptik yetersizlik hedef alınmış ve fosfolipid ön maddeleriyle beslenme takviyesi yaklaşımı denenerek yeni sinapsların oluşumunun indüklenmesi sağlanmıştır. Bu yaklaşımın yeni sinaps oluşumunu tetiklediği biyokimyasal, farmakolojik, moleküler biyolojik ve histolojik yöntemlerle kanıtlanarak deney hayvanlarının öğrenme ve hafıza fonksiyonlarının arttığı ve nörodejeneratif koşullarda beyin hasarının iyileşmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Takiben Alzheimer hastalarında yapılan klinik çalışmalarla etkinliği kanıtlanan bu yaklaşım günümüzde dünyanın birçok ülkesinde Alzheimer hastalarına reçete edilen ve yan etki profili çok düşük bir tedavi haline gelmiştir.

Giriş

Nörodejeneratif hastalıklar sinir hücrelerinin ilerleyici dejenerasyonu ve/veya ölümü ile karakterize tedavi olmayan durumlardır. Alzheimer, Parkinson, Huntington, Friedreich Ataksisi veya Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS) nörodejeneratif hastalıkların önemli örnekleridir. Sinir sisteminde tutulumun yerine bağlı olarak bilişsel ve/veya motor fonksiyonlar etkilenir. Bilişsel bozukluklar ve demans nörodejeneratif hastalıkların belirti ve bulguları arasında hatırı sayılır bir ağırlığa sahiptir. Demansın en sık nedeni olduğundan Alzheimer hastalığı bu kategorinin önde gelen hastalıklarındandır.

Alzheimer hastalığı multifaktöriyel ve ilerleyici bir demans nedenidir. Hastaların %5'inde ailesel geçiş bulunurken %95'inde hastalık sebebi bilinmeyen bir şekilde kendiliğinden ortaya çıkar ve prodromal Alzheimer olarak adlandırılır. Ailesel tipi daha genç yaşlarda görülse de Alzheimer bir yaşlılık hastalığıdır ve genel olarak 65 yaşının üzerindeki popülasyonda gözlenir. Yıllık insidansı 65 yaşta %0.3 iken 90 yaş ve üzerinde %6.9'a yükselmektedir. Yakın zamanda yapılan sistematik bir derleme ve meta-analiz raporuna göre 2010 yılında dünya genelinde 35.6 milyon civarında olan demans vakalarının her 20 yılda bir iki katına çıkarak 2030'da 65.7 milyon ve 2050'de 115.4 milyona ulaşması beklenmektedir (Prince ve ark., 2013).

Alzheimer hastalığı klinik olarak hafıza kaybı, konuşma bozukluğu, karar verme yetisinin bozulması ve ileri dönemlerde nöropsikiyatrik semptomlar (agresyon, psikoz, vs.) ile kendini gösterir. Alzheimer hastalığının tanısı bazı nöropsikiyatrik testler ve kan veya beyin omurilik sıvısında (BOS) analiz edilen bazı biyobelirteçler ışığında konabilse de, kesin tanıya post-mortem beyin otopsisinde amiloid plaklar ve nörofibriler yumaklar gibi patolojik oluşumların tespit edilmesi ile varılır.

Etiyopatogeneizde rol oynadığı düşünülen faktörlerden amiloid plaklar hücre dışı beta-amiloid proteinin birikimleri iken nörofibriler yumaklar ise hücre içinde tau proteininin anormal fosforilasyonu ve yanlış katlanması şeklinde ortaya çıkar. Bunlara ilaveten nöroinflamasyon, oksidatif

stres, genetik mutasyonlar, kolinerjik disfonksiyon, eksitotoksisite ve sinaps kaybı/sinaptik disfonksiyon diğer etiyopatogenetik faktörler arasında sayılabilir.

Alzheimer hastalığının kesin tedavisi henüz bulunmamaktadır. Bu durumun en önemli sebebi hastalığın nedeninin tam olarak bilinmemesidir. Bu yüzden bilinen etiyopatogenetik faktörlerin hedeflenmesi ile hastalara kısmen yardımcı olabilen medikasyonlar geliştirilmiştir. Bu anlamda dünyanın farklı ülkelerinde çeşitli yaklaşımlar denense de Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin (Food and Drug Administration; FDA) onayladığı sadece dört ilaç bulunmaktadır: bunlardan üç tanesi (donepezil, rivastigmin, galantamin) kolinesteraz inhibitörü grubunda olup hafif-orta şiddetli hastalıkta endikedir, bir tanesi (memantin) ise N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olup orta-ağır şiddetli Alzheimer'da kullanılır. Kolinesteraz inhibitörleri etiyopatogenetik faktörlerden kolinerjik disfonksiyonu hedefleyerek sinaptik aralıkta bulunan asetilkolin miktarını artırmak suretiyle etki gösterir. Memantin ise NMDA reseptörlerini bloke ederek glutamaterjik eksitotoksisiteyi önler.

Günümüzde kullanılan FDA onaylı bu ilaçlar hastanın bilişsel fonksiyonlarındaki gerilemeyi yavaşlatma ve yaşam kalitesini artırmayı hedeflemektedir. Ancak etkinlikleri günden güne azaldığından özellikle ileri dönem hastalarda doz artırımı ya da kombine tedavi sıklıkla başvuru yöntemlerdir. Bu ilaçlar vücuda yabancı kimyasallar olduğundan kronik kullanımda çok sayıda ve ciddi yan etkilere neden olurlar. Uzun dönemde kolinesteraz inhibitörü kullanımının iştah ve kilo kaybı, insomni, kas krampları, güçsüzlük, tremor, bulantı-kusma ve diyare gibi yan etkileri ortaya çıkar. Memantin ise yüz ve ekstremitelerde şişlikler, görme bulanıklığı, yorgunluk, sinirlilik, baş ağrısı, kulak dolgunluğu ve çarpıntı gibi yan etkilere neden olur. Bütün bu yan etkiler hastanın hayat kalitesini düşürdüğü gibi ilaca uyumunu da azaltır ve tedavinin başarısını olumsuz yönde etkiler.

Bu nedenlerden dolayı tedavide kullanılabilecek yan etki profili düşük farklı yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Etiyopatogenetik faktörler içinde bulunan sinaps kaybı ve sinaptik disfonksiyonun hedeflenmesi bu tür bir avantaja sahip yeni bir yaklaşıma izin vermektedir. Bu yaklaşımın adı "Tıbbi Beslenme" tedavisidir. Yakın zamanda yapılan deneysel ve klinik araştırmalarda

membran fosfolipid ön maddeleriyle yapılan beslenme takviyesinin beyinde yeni sinapsların oluşmasını sağlayarak Alzheimer hastalığının özellikle erken döneminde ortaya çıkan sinaps kaybını kompanse ettiği ve hastaların bilişsel fonksiyonlarındaki gerilemeyi yavaşlatarak yaşam kalitelerini artırdığı gösterilmiştir. Bu araştırmalarda kullanılan tıbbi gıdanın içeriği tamamen endojen (vücutta bulunan) maddelerden oluştuğu için de bahsi edilen tıbbi beslenme ürününün yan etkileri hemen hemen yok denecek kadar azdır.

Bu derleme, erken dönem Alzheimer hastalığında fayda sağlaması için yakın zamanda dünyanın birçok ülkesinde hekim reçetesi ile kullanılmaya başlanan, yeni sinaps oluşumunu teşvik ederek patogeneze rol oynayan sinaps kaybı ve sinaptik yetersizliği hedefleyen ve içeriği tamamen endojen bileşiklerden oluşan bir tıbbi beslenme ürününün bilimsel temellerini açıklamak üzere kaleme alınmıştır.

Alzheimer Patogenezinde Sinaps Kaybının Rolü

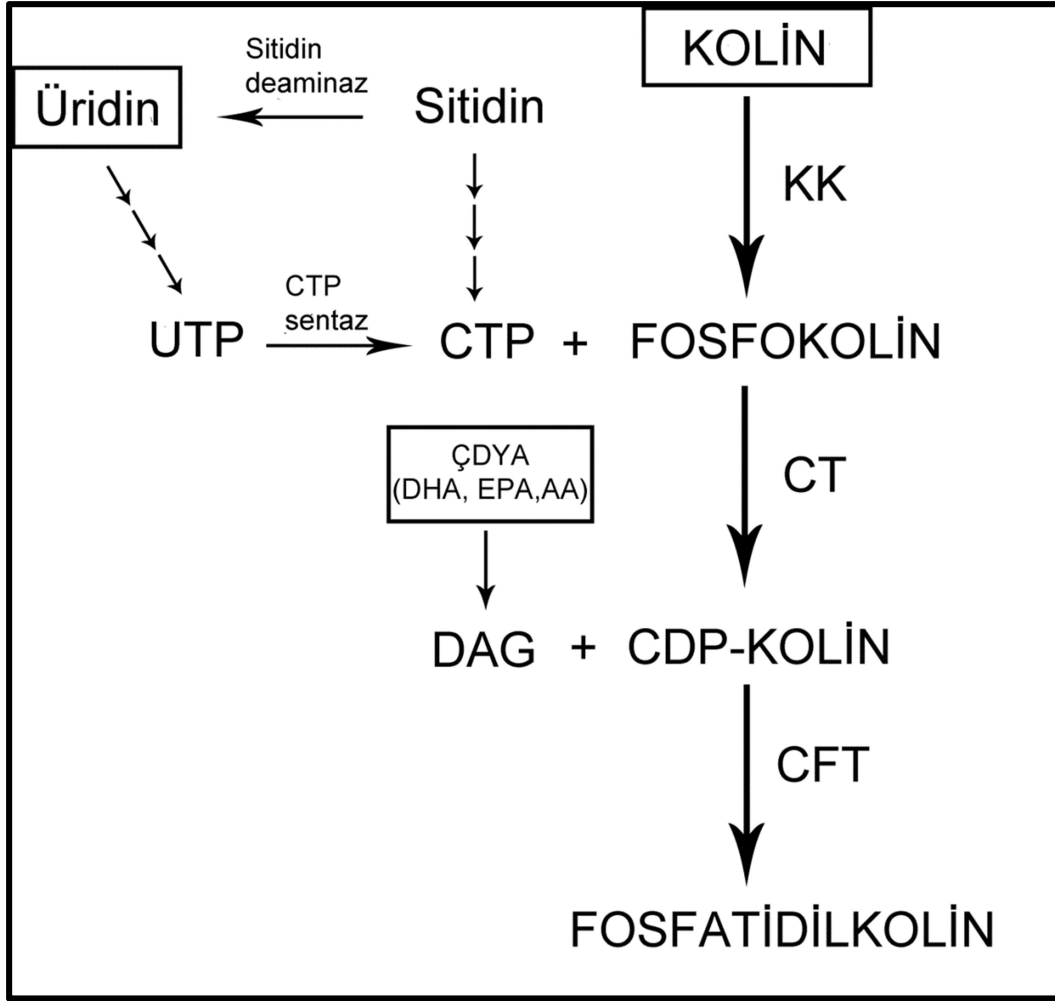
Sinaps kaybı ve sinaptik disfonksiyon belki de Alzheimer hastalığına yönelik araştırmalarda amiloid plaklar ve nörofibriler yumaklar kadar ilgi görmeyen ancak en az bu faktörler kadar önem arz eden patogenetik unsurlardır. Fakat sinaps kaybının azalmış bilişsel fonksiyon ile ilişkisini inceleyen çalışmalar bundan en az 30 yıl öncesine kadar gitmektedir. Doksanlı yılların başlarında yapılan çalışmalarda Alzheimer hastalarında kortikal sinaptik dansitesinin azalmış olduğu (Scheff ve ark., 1990) ve frontal kortekste sinaps kaybının bilişsel fonksiyon bozukluğu ile direkt ilişkili olduğu (DeKosky ve Scheff, 1990) gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarda bilişsel fonksiyon bozukluğunun beyindeki plak yoğunluğu veya kolin asetiltransferaz (ChAT) miktarı ile ilişkisi bulunmadığı bildirilmiştir (DeKosky ve Scheff, 1990). Farklı bir laboratuvarında yapılan bir diğer çalışmada da benzer verilere ulaşılmasını takiben şu sonuca varılmıştır: "Alzheimer araştırmacıları nöron ölümü ve apoptoz üzerinde yoğunlaşmış iken, bunların hiçbiri klinik resmi karakterize eden bilişsel değişikliklerin göstergesi değildir. Hücre sayımına kıyasla neokortikal sinapsların kaybı bilişsel bozuklukla çok daha

anlamli şekilde koreledir ve sinaps kaybi nöron ölümünden daha erken ve daha şiddetli biçimde ortaya çıkar” (Terry ve ark., 1991). Daha yakın zamanlarda yapılan benzer çalışmalar (Scheff ve ark., 2006; 2007) Alzheimer hastalığında sinaptik kaybının önemli bir patogenetik faktör olduğunu kanıtlamıştır. Bütün bu çalışmalara göre sinaps kaybi, Alzheimer hastalarında bilişsel test performansının direkt ve erken yapısal belirteçidir ve bilişsel bozukluklarla amiloid plaklar/nörofibriler yumaklar/nöron kaybının derecesine göre çok daha anlamlı ölçüde ilişkilidir.

Sinapslar ve Yeni Sinaps Oluşumunun Biyokimyasal Temelleri

Sinapslar, nöronlar arasındaki iletişimi sağlayan yapılardır ve temel olarak nöronal membranlardan oluşurlar. Alzheimer hastalığındaki sinaptik kayıplar bu membranların yapısının değişmesinden ya da dejenerasyonundan ileri gelir (Nitsch ve ark., 1992). Membranlar lipid yapısında olduğundan sinaptik fonksiyonun korunması için nöronlarda uygun membran lipid homeostazının sağlanması gerekir.

Nöronal membranların lipid yapısının büyük kısmı fosfolipidlerden meydana gelirken glikolipidler ve kolesterol daha küçük bir kısmı oluşturur. Membran fosfolipidlerinin de önemli bir kısmını fosfatidilkolin (PC) ve fosfatidiletanolamin (PE) oluşturur. Bu iki major membran fosfolipidi Kennedy yolu (Şekil 1) adı verilen biyokimyasal bir mekanizma ile sentezlenir (Kennedy ve Weiss, 1956). Kennedy yolunda bulunan kolin, üridin ve çoklu doymamış yağ asitleri (polyunsaturated fatty acids; PUFA) gibi bileşikler vücudumuzda endojen olarak buldukları gibi besinlerle de alınabilirler. Bu yolun önemli bir özelliği de reaksiyon basamaklarının tamamının doyurulabilir enzimler tarafından gerçekleştirilmesidir (Wurtman ve ark., 2009). Böylece reaksiyon için daha fazla ön madde sağlandığında reaksiyon basamağının sonunda daha fazla ürün ortaya çıkar.



Şekil 1: Kennedy yoluğı ile fosfatidilkolin sentezi. Kısaltmalar: CTP, sitidin trifosfat; ÇDYA, çoklu doymamış yağ asitleri; DHA, dokozaheksaenoik asit; EPA, eikozapentaenoik asit; AA, araşidonik asit; DAG, diaçilgliserol; KK, kolin kinaz; CT, CTP:fosfokolin sitidililtransferaz; CFT, CDP-kolin-1,2-diaçilgliserol kolinfosfotransferaz

Bu bilgilere dayanarak yeni sinaptik membranların oluşumu için şu şekilde bir hipotez kurulabilir: “membran fosfolipid sentezinde görev alan ön maddelerin vücuda daha fazla alınması ile daha fazla nöronal membran sentezlenmesi ve miktarı artan nöronal membranların yeni sinapsların yapımı için kullanılması mümkündür”.

Bu hipotezin gerçekliği ileriki bölümlerde anlatılan çalışmalarla ispatlanmıştır ve bunlara detaylı olarak değinilecektir. Buna ilaveten, farklı bir bakış açısıyla tersten giderek hipotezi kanıtlayan

bulgular da yakın zamanlı çalışmalarda elde edilmiştir. Örneğin, lipidomik yaklaşımla yapılan bir biyobelirteç çalışmasında, bilişsel fonksiyonları normal olan yaşlı bireylerin plazmalarında bazı fosfolipidlerin düşük düzeylerde bulunmasının bu bireylerin 2-3 yıl içinde hafif bilişsel bozukluk veya Alzheimer hastalığına ilerleme olasılığını %90 keskinlik ile öngörebildiği ortaya çıkarılmıştır (Mapstone ve ark., 2014). Buna ilaveten, fosfolipid sentezinde kullanılan besin içeriklerinin kan dolaşımındaki ve BOS'taki düzeylerinin hem hafif bilişsel bozukluk hem de Alzheimer hastalığında düşük olduğu gösterilmiştir (van Wijk ve ark., 2017).

Fosfolipid Ön Maddeleri İçeren Besin Takviyesi ile Yapılan Deneysel Çalışmalar

Bu çalışmalar ilk önce in vitro ve in vivo koşullarda üridin'in akut uygulaması ile fosfatidilkolin sentezinde hız kısıtlayıcı basamakta ortaya çıkan CDP-kolin miktarının ne şekilde değiştiğini inceleyen çalışmalar olmuştur. Tek doz üridin uygulaması in vitro nöronal kültürlerde (Richardson ve ark., 2003) ve deney hayvanlarının beyinde (Cansev ve ark., 2005) CDP-kolin miktarını artırmıştır. Bu bulgular tek doz üridin uygulaması ile beyinde fosfolipid sentezinin artabileceğini ancak fosfolipid miktarının bu uygulamadan etkilenmediğini göstermiştir. Takip eden çalışmalarda üridin ile birlikte diğer ön maddelerin kombine edilerek kronik süreçte deney hayvanlarına besin takviyesi şeklinde uygulanması sonucu beyinde fosfolipid miktarlarının arttığı gösterilmiştir (Wurtman ve ark., 2006). Bu çalışmada aynı zamanda beyinde artan fosfolipidlerin sinaptik membran yapımında kullanıldığı moleküler biyolojik yöntemlerle belirlenmiştir. Sinaptik membran miktarındaki artışın yeni sinapsların yapımıyla sonuçlanıp sonuçlanmadığını inceleyen bir başka çalışmada da bu tedavinin sinapsın bir komponenti olan dendritik dikenlerin (dendritic spine) beyin hipokampus bölgesinde birim alana düşen sayısını arttırdığı gösterilmiştir (Sakamoto ve ark., 2007).

Fosfolipid ön maddelerini içeren besin takviyesinin deney hayvanlarında yeni sinapsların oluşumunu teşvik ettiğine dair biyokimyasal, moleküler biyolojik ve morfolojik kanıtların yanı sıra

öğrenme ve bellek gibi fonksiyonel parametreler de incelenmiş ve bu yaklaşımın deney hayvanlarının bilişsel fonksiyonlarını geliştirdiği gözlenmiştir (Holguin ve ark., 2008a; 2008b).

Tüm bu çalışmalarda elde edilen verilerin Alzheimer hastalığı gibi bir durum için uygulanabilirliğinin olması için bu yaklaşımın etkinliğinin sinaps kaybıyla karakterize olan deneysel bir nörodejenerasyon modelinde de gösterilmesi gerekmektedir. Ancak Alzheimer hastalığının tüm evrelerini doğru bir şekilde yansıtan deneysel bir model bulunmamaktadır. Var olan modellerin hemen tamamı deney hayvanlarında genetik mutasyonlarla oluşturulmuştur ve hastaların sadece %5'lik bir kısmını yansıtmaktadır (Drummond ve Wisniewski, 2017). Geri kalan %95'lik prodromal Alzheimer hastalığını yansıtan bir deneysel model henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle striatum'daki dopaminerjik terminallerin 6-hidroksidopamin (6-OHDA) ile hasarlanmasına dayanan ve bu şekilde striatal dopaminerjik sinaps kaybını taklit eden deneysel Parkinson modeli kullanılmıştır (Cansev ve ark., 2008). Fosfolipid ön maddelerini içeren besin takviyesinin kronik uygulaması deneysel Parkinson modelinde striatal fosfolipid miktarını, tirozin hidroksilaz aktivitesini, dopamin düzeylerini ve sinaptik proteinlerin miktarlarını artırarak deney hayvanlarında striatal hasarın derecesine dair davranışsal bir gösterge olan d-amfetamin'in indüklediği rotasyon davranışını azaltmıştır (Cansev ve ark., 2008).

Fosfolipid Ön Maddeleri İçeren Besin Takviyesi ile Yapılan Klinik Araştırmalar

Bu tedavi yaklaşımı üstteki deneysel gözlemlerden sonra besin içeriğine fosfolipid sentez basamaklarında görevli bazı kofaktörler ve vitaminler eklenmek suretiyle Fortasyn Connect® adı verilerek patentlenmiş (Tablo 1) ve takiben Souvenaid® müstahzar adı ile Alzheimer hastaları üzerinde denenmeye başlanmıştır.

Tablo 1. Fortasyn Connect® besinsel kompozisyonu (Scheltens ve ark., 2010)

İçerik	Günlük Doz Başına Miktar
Eikozapentaenoik Asit (EPA)	300 mg
Dokosaheksaenoik Asit (DHA)	1200 mg
Fosfolipidler	106 mg
Kolin	400 mg
Üridin monofosfat (UMP)	625 mg
Vitamin E (alfa-tokoferol)	40 mg
Vitamin C	80 mg
Selenyum	60 µg
Vitamin B12	3 µg
Vitamin B6	1 mg
Folik Asit	400 µg

İlk yapılan randomize, çift-kör kontrollü kavram kanıtlama (proof-of-concept) araştırmasına ilk kez tanı konan ve daha önce başka bir medikasyon almayan erken dönem 225 Alzheimer hastası dahil edilmiştir (Scheltens ve ark., 2010). On iki hafta boyunca bu tedaviyi alan hastalarda gecikmiş sözel hatırlama (delayed verbal recall) testiyle hafıza fonksiyonunun kontrollere göre iyileştiği ortaya konmuştur (Scheltens ve ark., 2010).

Bu ilk çalışmanın sonuçlarını doğrulamak ve genişletmek üzere daha sonra erken dönem Alzheimer hastaları üzerinde 24 haftalık randomize, kontrollü, çift-kör, paralel grup, çok merkezli bir klinik araştırma daha yapılmıştır (Souvenir II çalışması). Bu çalışmada primer çıktı olarak incelenen Nöropsikolojik Test Baterisi (Neuropsychological Test Battery; NTB) Z skoru ilacı kullanan hastalarda kontrollere göre anlamlı ölçüde artarken elektroensefalografi (EEG) verileri aktif gruptaki nöronal iletişimin de arttığı gösterilmiştir (Scheltens ve ark., 2012). Souvenir II çalışmasına katılan

gönüllülerden elde edilen EEG kayıtları daha sonra grafik teorisine göre yeniden değerlendirildiğinde Souvenaid'in beyin ağlarının organizasyonunu koruduğu ve beyindeki iletişim ağlarının ilerleyici yıkımını önlediğini ortaya çıkarmıştır (de Waal ve ark., 2014).

Ardından hafif-orta şiddette hastalığa sahip olan Alzheimer hastalarında 24 hafta boyunca normal tedavilerine ek olarak Souvenaid kullanılması suretiyle dizayn edilen S-Connect çalışmasında anlamlı bir etki gösterilememiştir (Shah ve ark., 2013).

Son olarak, ilacı üreten firma ile hiçbir ilişkisi bulunmayan araştırmacıların yürüttüğü ve Avrupa Birliği fonları tarafından desteklenen son klinik araştırmada (LipiDiDiet çalışması) ise prodromal Alzheimer hastalığı tanısı ile takip edilen hastalara 24 ay süre ile verilen Souvenaid hastalardaki bilişsel bozulmayı ve hipokampal atrofiyi azaltma eğilimi göstermiştir (Soininen ve ark., 2017). Bu çalışmanın ilk 24 aylık verileri yayınlanmış olmakla beraber bu derlemenin yazıldığı tarihlerde klinik araştırma devam etmektedir ve daha uzun vadeli sonuçların ileriki yıllarda yayınlanması beklenmektedir.

Sonuç olarak, fosfolipid ön maddelerinin ve bazı vitamin ve kofaktörlerin kombine edilmesi suretiyle kronik olarak kullanılan besin takviyesi tedavisinin deney hayvanlarında sinaps yapımını artırmakta ve öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını iyileştirmektedir. Bu yaklaşım nörodejeneratif bir durum olan deneysel Parkinson hasarını da azaltmaktadır. Alzheimer hastaları üzerinde yapılan klinik çalışmalarda da beyindeki sinaptik ağlar arasındaki iletişimi kuvvetlendirerek öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını geliştirdiği ve hastaların hipokampal atrofilerini azalttığı gözlenmiştir. Bu yaklaşım Alzheimer hastalarına reçete edilen ve yan etki profili çok düşük bir tedavi olarak günümüzde dünyanın birçok ülkesinde kullanılır hale gelmiştir.

Kaynaklar

Cansev M, Watkins CJ, van der Beek EM, Wurtman RJ. Oral uridine-5'-monophosphate (UMP) increases brain CDP-choline levels in gerbils. *Brain Res.* 2005 Oct 5;1058(1-2):101-8.

Cansev M, Ulus IH, Wang L, Maher TJ, Wurtman RJ. Restorative effects of uridine plus docosahexaenoic acid in a rat model of Parkinson's disease. *Neurosci Res.* 2008 Nov;62(3):206-9.

DeKosky ST, Scheff SW. Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: correlation with cognitive severity. *Ann Neurol.* 1990 May;27(5):457-64.

de Waal H, Stam CJ, Lansbergen MM, Wieggers RL, Kamphuis PJ, Scheltens P, Maestú F, van Straaten EC. The effect of souvenaid on functional brain network organisation in patients with mild Alzheimer's disease: a randomised controlled study. *PLoS One.* 2014 Jan 27;9(1):e86558.

Drummond E, Wisniewski T. Alzheimer's disease: experimental models and reality. *Acta Neuropathol.* 2017 Feb;133(2):155-175.

Holguin S, Huang Y, Liu J, Wurtman R. Chronic administration of DHA and UMP improves the impaired memory of environmentally impoverished rats. *Behav Brain Res.* 2008a Aug 5;191(1):11-6.

Holguin S, Martinez J, Chow C, Wurtman R. Dietary uridine enhances the improvement in learning and memory produced by administering DHA to gerbils. *FASEB J.* 2008b Nov;22(11):3938-46

Kennedy EP, Weiss SB. The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides. *J Biol Chem.* 1956 Sep;222(1):193-214.

Mapstone M, Cheema AK, Fiandaca MS, Zhong X, Mhyre TR, MacArthur LH, Hall WJ, Fisher SG, Peterson DR, Haley JM, Nazar MD, Rich SA, Berlau DJ, Peltz CB, Tan MT, Kawas CH, Federoff HJ.

Plasma phospholipids identify antecedent memory impairment in older adults. *Nat Med.* 2014 Apr;20(4):415-8.

Nitsch RM, Blusztajn JK, Pittas AG, Slack BE, Growdon JH, Wurtman RJ. Evidence for a membrane defect in Alzheimer disease brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Mar 1;89(5):1671-5.

Prince M, Bryce R, Albanese E, Wimo A, Ribeiro W, Ferri CP. The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. *Alzheimers Dement.* 2013 Jan;9(1):63-75.e2.

Richardson UI, Watkins CJ, Pierre C, Ulus IH, Wurtman RJ. Stimulation of CDP-choline synthesis by uridine or cytidine in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Brain Res.* 2003 May 9;971(2):161-7.

Sakamoto T, Cansev M, Wurtman RJ. Oral supplementation with docosahexaenoic acid and uridine-5'-monophosphate increases dendritic spine density in adult gerbil hippocampus. *Brain Res.* 2007 Nov 28;1182:50-9.

Scheff SW, DeKosky ST, Price DA. Quantitative assessment of cortical synaptic density in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 1990 Jan-Feb;11(1):29-37.

Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, Mufson EJ. Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging.* 2006 Oct;27(10):1372-84.

Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, DeKosky ST, Mufson EJ. Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology.* 2007 May 1;68(18):1501-8.

Scheltens P, Kamphuis PJ, Verhey FR, Olde Rikkert MG, Wurtman RJ, Wilkinson D, Twisk JW, Kurz A. Efficacy of a medical food in mild Alzheimer's disease: A randomized, controlled trial. *Alzheimers Dement.* 2010 Jan;6(1):1-10.e1.

Scheltens P, Twisk JW, Blesa R, Scarpini E, von Arnim CA, Bongers A, Harrison J, Swinkels SH, Stam CJ, de Waal H, Wurtman RJ, Wieggers RL, Vellas B, Kamphuis PJ. Efficacy of Souvenaid in mild Alzheimer's disease: results from a randomized, controlled trial. *J Alzheimers Dis.* 2012;31(1):225-36.

Shah RC, Kamphuis PJ, Leurgans S, Swinkels SH, Sadowsky CH, Bongers A, Rappaport SA, Quinn JF, Wiegers RL, Scheltens P, Bennett DA. The S-Connect study: results from a randomized, controlled trial of Souvenaid in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2013 Nov 26;5(6):59.

Soininen H, Solomon A, Visser PJ, Hendrix SB, Blennow K, Kivipelto M, Hartmann T; LipiDiDiet clinical study group. 24-month intervention with a specific multinutrient in people with prodromal Alzheimer's disease (LipiDiDiet): a randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet Neurol.* 2017 Dec;16(12):965-975.

Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, Hansen LA, Katzman R. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol.* 1991 Oct;30(4):572-80.

van Wijk N, Slot RER, Duits FH, Strik M, Biesheuvel E, Sijben JWC, Blankenstein MA, Bierau J, van der Flier WM, Scheltens P, Teunissen CE. Nutrients required for phospholipid synthesis are lower in blood and cerebrospinal fluid in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease dementia. *Alzheimers Dement (Amst).* 2017 May 16;8:139-146.

Wurtman RJ, Ulus IH, Cansev M, Watkins CJ, Wang L, Marzloff G. Synaptic proteins and phospholipids are increased in gerbil brain by administering uridine plus docosahexaenoic acid orally. *Brain Res.* 2006 May 9;1088(1):83-92.

Wurtman RJ, Cansev M, Ulus IH (2009) Choline and its products acetylcholine and phosphatidylcholine. In: *Neural Lipids, Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology*, Lajtha A (ed.), Vol: 8, Part: 4, Chapter: 2, pp. 443-501, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.